



TUGAS AKHIR – SB 141510

**STUDI AWAL PEMANFAATAN BAWANG PUTIH YANG
DIHITAMKAN SEBAGAI ANTIBAKTERI**

**St Qurratul Aini
1510 100 029**

**Dosen Pembimbing:
Dr. rer. nat. Ir. Maya Shovitri, M. Si.**

**DEPARTEMEN BIOLOGI
FAKULTAS ILMU ALAM
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA 2018**



FINAL PROJECT – SB 141510

**A PRELIMINARY STUDY: POTENCY OF AGED
GARLIC AS AN ANTI BACTERIAL AGENT**

**St Qurratul Aini
1510 100 029**

**Supervisor:
Dr. rer. nat. Ir. Maya Shovitri, M. Si.**

**BIOLOGY DEPARTMENT
FACULTY OF SCIENCE
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA 2018**

LEMBAR PENGESAHAN

**STUDI AWAL PEMANFAATAN BAWANG PUTIH
YANG DIHITAMKAN SEBAGAI ANTIBAKTERI**

TUGAS AKHIR

Diajukan Untuk Memenuhi Salah Satu Syarat
Memperoleh Gelar Sarjana Sains

Pada

Departemen S-1 Biologi
Fakultas Ilmu Alam

Institut Teknologi Sepuluh Nopember

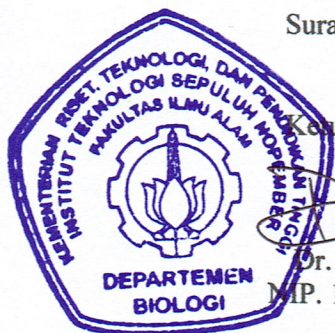
Oleh:

ST QURRATUL AINI
NRP. 1510 100 029

Disetujui oleh Pembimbing Tugas Akhir:

Dr. rer. nat. Ir. Maya Shovitri, M. Si.....(Pembimbing)

Surabaya, 26 Januari 2018



Mengetahui,

Ketua Departemen Biologi

Dr. Dewi Hidayati, M.Si.

NIP. 19691121 199802 2 001

STUDI AWAL PEMANFAATAN BAWANG PUTIH YANG DIHITAMKAN SEBAGAI ANTIBAKTERI

Nama : St Qurratul Aini
NRP : 1510 100 029
Departemen : Biologi
Dosen Pembimbing : Dr. rer. nat. Ir. Maya Shovitri, M. Si.

Abstrak

Bawang hitam adalah bawang putih segar yang telah dipanaskan selama beberapa waktu sehingga berubah warna, bau dan juga rasanya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah bawang hitam sebagai olahan bawang putih memiliki daya antibakteri dengan melihat zona hambat dan pertumbuhan bakteri menggunakan metode difusi dan dilusi yang dimodifikasi. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa Eschericia coli (Gram -), Bacillus subtilis (Gram +), dan Staphylococcus aureus (Gram +) resisten terhadap ekstrak bawang putih dan bawang hitam, sedangkan Pseudomonas aeruginosa (Gram -) sensitif terhadap ekstrak bawang putih dan ekstrak bawang hitam. Konsentrasi bunuh minimum ekstrak bawang hitam terhadap E. coli adalah 85%, S. aureus adalah 90%, dan pada P. aeruginosa serta B. subtilis adalah 100%. Kemudian konsentrasi bunuh minimum ekstrak bawang putih terhadap E. coli adalah 80%, S. aureus adalah 95%, dan pada P. aeruginosa serta B. subtilis adalah 100%.

Kata kunci: anti bakteri, bawang putih, difusi, dilusi.

A PRELIMINARY STUDY: POTENCY OF AGED GARLIC AS AN ANTI BACTERIAL AGENT

Name : St Qurratul Aini
NRP : 1510 100 029
Department : Biology
Supervisor : Dr. rer. nat. Ir. Maya Shovitri, M. Si

Abstract

The aged garlic is fresh garlic that has been heated for some time so it changes the colour, smell and also taste. The aim of this research is to find out whether aged garlic as a garlic processed has antibacterial agent by looking at the inhibitory zone and bacterial growth using diffusion method and modified dilution method. The results showed that *Escherichia coli* (Gram -), *Bacillus subtilis* (Gram +), and *Staphylococcus aureus* (Gram +) were resistant to the garlic and aged garlic extract, while *Pseudomonas aeruginosa* (Gram -) was sensitive to garlic and aged garlic extract. The minimum bacteriocidal concentration of aged garlic extract on *E. coli* was 85%, *S. aureus* was 90%, and 100% in *P. aeruginosa* and *B. subtilis*. Then the minimum bacteriocidal concentration of garlic extract on *E. coli* was 80%, *S. aureus* was 95%, and 100% in *P. aeruginosa* and *B. subtilis*.

Keywords: antibacteria, garlic, diffusion, dillusion

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas berkat dan hikmat-Nya sehingga dapat menyelesaikan penelitian tugas akhir dengan judul “*Studi Awal Pemanfaatan Bawang Putih yang Dihitamkan sebagai Antibakteri*”. Penyusunan Laporan Tugas Akhir ini merupakan syarat untuk dapat menyelesaikan perkuliahan dan mendapatkan predikat Sarjana di Departemen Biologi FIA ITS.

Penyusunan Laporan Tugas Akhir ini dalam pelaksanaannya tidak lepas dari bimbingan dan batuan dari berbagai pihak. Oleh sebab itu saya sampaikan terimakasih kepada pihak-pihak yang telah membantu, yaitu: Ibu Dr. Dewi Hidayati, S. Si., M. Si selaku ketua Departemen Biologi FIA ITS; Ibu Dr. Awik Puji Dyah Nurhayati, S. Si., M. Si selaku ketua prodi S1 Departemen Biologi ITS; Ibu Dr. rer. nat. Ir. Maya Shovitri, M. Si selaku dosen pembimbing; Ibu Dr. Enny Zulaika, MP dan Ibu Wirdhatul Muslihatin, S. Si., M. Si selaku dosen penguji.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam penyusunan tugas akhir ini, sehingga kritik dan saran yang membangun sangat berarti bagi saya selaku penulis.

Surabaya, 26 Januari 2018

St Qurratul Aini

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN.....	iii
ABSTRAK	v
<i>ABSTRACT</i>	vii
KATA PENGANTAR.....	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR TABEL	xivv
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Permasalahan.....	2
1.3 Batasan Masalah.....	2
1.4 Tujuan.....	3
1.5 Manfaat.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Bawang Putih (<i>Allium sativum</i> L.)	5
2.2 Bawang Hitam.....	8
2.3 Anti Bakteri	9
a. Bakteriostatik	10
b. Bakteriosidal.....	10
c. Bakteriolitik.....	10
2.3.1. Metode Difusi.....	11
2.3.2. Metode Dilusi	12
2.4. Mikroorganisme	14
2.4.1 Bakteri	14
a. <i>Eschericia coli</i>	15
b. <i>Staphylococcus aureus</i>	16
c. <i>Pseudomonas aureginosa</i>	17
d. <i>Bacillus cereus</i>	18
2.5. Ekstraksi	18

a. Ekstraksi secara Soxhletasi	19
b. Ekstraksi secara Perkolasi	19
c. Ekstraksi secara Maserasi.....	19
d. Ekstraksi secara Refluks.....	20
e. Ekstraksi secara Penyulingan	20
2.6. Metode Perhitungan Sel	20

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	23
3.2 Pembuatan Bawang Hitam	23
3.3 Pembuatan Ekstrak Bawang Hitam	23
3.4 Pembuatan Media dan Sterilisasi	24
3.5 Peremajaan Isolat Bakteri Uji dan Pembuatan Starter.....	25
3.6 Metode Difusi.....	26
3.7 Metode Dilusi	26

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Zona Hambat yang dibentuk oleh Ekstrak Bawang Hitam ...	27
---	----

BAB V KESIMPULAN

5.1 Kesimpulan.....	33
5.1 Saran.....	33

DAFTAR PUSTAKA	35
LAMPIRAN	45

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Bawang Putih.....	6
Gambar 2.2 Bawang Hitam	8
Gambar 2.3 <i>Escherichia coli</i>	15
Gambar 2.4 <i>Staphylococcus aureus</i>	16
Gambar 2.5 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	17
Gambar 2.6 <i>Bacillus subtilis</i>	18
Gambar 2.7 <i>Haemacytometer</i>	21
Gambar 4.1 Histogram Rata-Rata Diameter Zona Hambat.....	28

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2. 1 Standar Diameter Zona Hambat Menurut Prescott	11
Tabel 2. 2 Standar Larutan Mc Farland Menurut Sutton 2011....	13
Tabel 4. 1 Nilai Konsentrasi Bunuh Minimum	30

“Halaman Ini Sengaja dikosongkan”

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1: Hasil Pengamatan KHM.....	45
Lampiran 2: Hasil Pengamatan KBM	46
Lampiran 3: Data Ukuran Zona Hambat Ekstrak.....	47

“Halaman Ini Sengaja dikosongkan”

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Tanaman bawang putih (*Allium sativum* Linn.) adalah tanaman hortikultura yang memiliki banyak manfaat. Umbi bawang putih berguna sebagai bumbu dan obat beberapa penyakit seperti infeksi pernafasan dan untuk meningkatkan vitalitas tubuh (Pratimi, 1995). Bawang putih salah satunya digunakan pula sebagai antibakteri (Barnes, 2002). Ekstrak bawang putih telah lama diketahui memiliki aktivitas antibakteri terhadap berbagai bakteri patogen dalam tubuh manusia. Antibakteri dari tumbuhan beberapa dekade ini dikembangkan sebagai jalan alternatif obat-obatan alami dengan efek samping minimal karena berkembangnya tingkat resistensi bakteri terhadap obat (Gull, 2014). Resistensi bakteri terhadap obat terjadi karena penggunaan obat yang tidak sesuai dengan tingkat rasionalitas. Rasionalitas pemakaian obat tersebut meliputi tepat indikasi, tepat penderita, tepat obat, tepat dosis dan waspada efek samping obat. Pemakaian obat yang tidak rasional akan menyebabkan munculnya banyak efek samping dan mendorong munculnya bakteri resisten (Sutrisna, 2012). Aktivitas antibakteri dalam ekstrak bawang putih ini berspektrum luas, efektif terhadap bakteri Gram (+) dan juga Gram (-) (Majewski, 2013). Komponen utama dalam bawang putih yang dipercaya bertanggung jawab atas potensi antibakteri dan potensi terapeutik lain pada bawang putih ialah kandungan sulfur dalam bawang putih (Uzodike, 2005), diantaranya ialah *Diallyl thiosulfinate* (allicin) dan juga *Diallyl disulfide* (ajoene) (Dusica, 2011).

Produk olahan yang berasal dari bawang putih di beberapa negara seperti Cina dan Korea Selatan sudah banyak, salah satunya bawang hitam. Bawang hitam adalah bawang putih yang dihangatkan pada suhu dan kelembapan tertentu sehingga menjadi hitam, lunak dan sedikit terasa asam. Banyak penelitian yang membuktikan bawang putih mengandung zat antibakteri yaitu

alliin (*S-allyl-cysteine sulphoxide*) yang disintesis dari asam amino sistein (Bongiorno *et al*, 2008; Kemper, 2000; Odey *et al*, 2012).

Penelitian tentang uji aktivitas antibakteri yang pernah dilakukan secara umum menggunakan uji difusi metode Kirby-Bauer dan dilusi metode cair (Rahman, *et al.*, 2009; Manoharan *et al.*, 2003; Sasaki *et al.*, 2007). Uji difusi metode Kirby-Bauer adalah metode uji aktifitas antibakteri menggunakan kertas cakram yang dijenuhkan dengan larutan uji dan hasilnya berupa zona hambat yang ada di sekitar kertas cakram. Uji dilusi metode cair adalah uji aktifitas antibakteri semi kuantitatif, yaitu dengan larutan uji dilarutkan ke dalam media cair, kemudian ditanami bakteri uji (Davis, 1996). Bakteri uji yang dipakai pada dua metode ini umumnya bersifat patogen baik bakteri Gram (+) maupun Gram (-), menghasilkan enterotoksin, ada yang berfili dan ada yang membentuk endospora yang menyebabkan infeksi dan keracunan. Beberapa bakteri patogen yang telah dievaluasi sensitivitasnya adalah *Salmonella* spp, *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Micrococcus*, *Helicobacter*, *Pseudomonas*, *Proteus*, *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis* (Bayan, 2014). Bakteri – bakteri tersebut dapat ditemukan pada saluran pencernaan atau berada di luar usus, pada bagian hidung atau pada kulit, ditemukan di tanah, air dan udara, serta dapat mengkontaminasi makanan (Ryan & Ray, 2004)

1.2. Rumusan Masalah

Permasalahan yang akan dikaji pada penelitian ini adalah apakah bawang hitam memiliki zat anti bakteri berdasarkan uji kualitatif zona hambat.

1.3. Batasan Masalah

- a. Bakteri uji yang dipakai adalah *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, sebagai perwakilan bakteri Gram (-), serta *Staphylococcus aureus*, dan *Bacillus subtilis* sebagai perwakilan bakteri Gram (+).

- b. Parameter kualitatif yang dipakai adalah zona hambat dari uji difusi Kirby-Bauer dan pertumbuhan bakteri dari uji dilusi padat.
- c. Zat antibakteri yang terkandung dalam bawang hitam tidak dianalisa.

1.4. Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi bawang hitam menghasilkan zat antibakteri berdasarkan zona hambat dan pertumbuhan bakteri.

1.5. Manfaat

Manfaat dari penelitian ini adalah memberikan informasi mengenai daya antibakteri bawang hitam terhadap bakteri uji. Selain itu, hasil dari penelitian ini diharapkan dapat menjadi salah satu acuan penelitian maupun penulisan karya ilmiah mengenai daya antibakteri khususnya bawang hitam serta dapat diaplikasikan secara langsung pada masyarakat.

“Halaman Ini Sengaja dikosongkan”

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Bawang Putih

Bawang putih merupakan tanaman dari genus *Allium* yang umbinya banyak dimanfaatkan sebagai bumbu masakan dan pengobatan herbal yang telah digunakan oleh manusia selama lebih dari 7.000 tahun. Bawang putih sebenarnya berasal dari Asia Tengah, diantaranya Cina dan Jepang yang beriklim subtropik. Dari sini bawang putih menyebar ke seluruh Asia, Eropa, dan akhirnya ke seluruh dunia (Syamsiah dan Tajudin, 2003).

Tanaman bawang putih adalah salah satu jenis tanaman sayuran umbi semusim yang tumbuh tegak sampai ketinggian 41-84 cm, tergantung dari varietasnya. Pada varietas dataran tinggi, bawang putih tumbuh hingga 60 cm (Cahyono, 1994). Bawang putih termasuk dalam famili Liliaceae (suku bawang-bawangan) dan merupakan tanaman herba parenial yang membentuk umbi lapis.

Tanaman ini tumbuh secara berumpun dan berdiri tegak, dan batang yang tampak diatas permukaan tanah adalah batang semu yang terdiri dari pelepah-pelepah daun. Sedangkan batang yang sebenarnya berada di dalam tanah. Dari pangkal batang tumbuh akar berbentuk serabut kecil yang banyak dengan panjang kurang dari 10 cm. Akar yang tumbuh pada batang pokok bersifat rudimeter, berfungsi sebagai alat penghisap makanan (Santoso, 2000). Bawang putih membentuk umbi lapis berwarna putih. Sebuah umbi terdiri dari 8-20 siung (anak bawang). Antara siung satu dengan yang lainnya dipisahkan oleh kulit tipis dan liat, serta membentuk satu kesatuan yang kuat dan rapat. Di dalam siung terdapat lembaga yang dapat tumbuh menerobos pucuk siung menjadi tunas baru, serta daging pembungkus lembaga yang berfungsi sebagai pelindung sekaligus gudang persediaan makanan. Bagian dasar umbi pada hakikatnya adalah batang pokok yang mengalami rudimentasi (Santoso, 2000).

Bawang putih (Gambar 2.1.) umumnya tumbuh didataran tinggi, tetapi varietas tertentu mampu tumbuh di dataran rendah. Tanah yang bertekstur lempung berpasir atau lempung berdebu dengan pH netral menjadi media tumbuh yang baik. Lahan tanaman ini tidak boleh tergenang air. Suhu yang cocok untuk budidaya didataran tinggi berkisar antara 20°-25°C dengan curah hujan sekitar 1.200 – 2.400 mm pertahun, sedangkan suhu untuk dataran rendah berkisar antara 27°-30°C (Santoso, 2000).



Gambar 2.1. Bawang Putih (Syamsiah dan Tajudin, 2003).

Klasifikasi bawang putih:

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Magnoliophyta
Classis	: Liliopsida
Ordo	: Asparagales
Famili	: Alliaceae
Genus	: Allium
Species	: <i>Allium sativum</i>

(Kumar *et al.*, 2010)

Selain untuk dikonsumsi, umbi bawang putih dapat dimanfaatkan secara tradisional untuk pengobatan. Bangsa Sumeria telah mengenal bawang putih untuk pengobatan, sekitar tahun 2600–2100 SM. Sedangkan bangsa Mesir Kuno, dalam Codex Ebers (1550 SM), mengenal bawang putih sebagai bahan ramuan untuk mempertahankan stamina tubuh para pekerja dan olahragawan. Orang Yahudi kuno mempelajari pemanfaatan

bawang putih dari Bangsa Mesir dan menyebarkannya ke semenanjung Arab. Bawang putih mengandung minyak atsiri, alliin, kalium, saltivine, diallylsulfide (PDII LIPI, 2007). Bawang putih mempunyai aktivitas sebagai antibakteri dan antifungi. Kemampuan bawang putih sebagai antibakteri didukung penelitian Rustama *dkk.* (2005) yang menyatakan bahwa bawang putih mampu menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan gram negatif. Kemampuan bawang putih ini berasal dari zat kimia yang terkandung di dalam umbi. Zat kimia tersebut adalah alil sulfida (biasa disebut alisin) yang diduga merusak dinding sel dan menghambat sintesis protein. Alisin tidak terbentuk pada tanaman utuh bawang putih, karena pada bawang putih utuh mengandung aliin dan enzim alinase. Apabila bawang putih diiris atau dihancurkan, maka aliin akan bereaksi dengan enzim alinase membentuk alisin (Ankri & Mirelman, 1999).

Bawang putih mengandung setidaknya 33 senyawa belerang, beberapa enzim, 17 asam amino, dan mineral seperti selenium (Newall, 1996). Bawang putih mengandung konsentrasi senyawa sulfur lebih tinggi daripada genus *Allium* lainnya. Senyawa sulfur bertanggung jawab baik untuk bau tajam bawang putih. Bawang putih kering bubuk mengandung sekitar 1% alliin (*S-alil sistein sulfoksida*) (Anonim, 1997). Salah satu senyawa yang paling aktif secara biologis adalah allicin (*diallyl thiosulfinate* atau *diallyl disulfide*) yang tidak ada pada bawang putih sampai dihancurkan atau dipotong. Kerusakan pada bawang putih mengaktifkan enzim allinase, yang memetabolisme alliin menjadi allicin (Block, 1985). Allicin selanjutnya dimetabolisme menjadi *vinylthiines*. Kerusakan ini terjadi dalam hitungan jam pada suhu kamar dan dalam beberapa menit saat memasak (Blania, 1991). Allicin, yang pertama kali diisolasi secara kimia pada tahun 1940, memiliki efek antimikroba terhadap banyak virus, bakteri, jamur dan parasit (Bradley, 1992). Minyak bawang putih, bawang putih tua dan bawang putih yang disiram uap tidak mengandung sejumlah besar aliin atau allicin, namun mengandung berbagai produk transformasi allicin, tetapi tidak ada yang tampaknya memiliki

aktivitas fisiologis sebanyak bubuk bawang putih atau bawang putih segar (Block, 1985; Lawson, 1991; Miething, 1988).

2.2. Bawang Hitam

Bawang putih dapat diolah dengan cara dipanaskan pada suhu dan kelembapan tertentu sampai menghasilkan bawang putih yang berwarna hitam atau disebut Bawang Hitam (Gambar 2.2.). Bawang Hitam merupakan produk olahan dari bawang putih yang dipanaskan pada suhu 65 – 80°C dengan kelembapan 70 – 80% dari suhu kamar selama satu bulan (Wang *et al*, 2010). Bawang Hitam memiliki warna hitam, ringan karena kadar airnya berkurang dan mempunyai aroma serta rasa yang tidak terlalu menyengat seperti bawang putih. Dalam bawang putih hitam, *S-allylcysteine* membantu penyerapan allicin sehingga metabolisme perlindungan terhadap infeksi bakteri menjadi lebih mudah (Abusufyan, 2012).



Gambar 2.2. Bawang Hitam (Wang *et al*, 2010).

Bawang hitam dibuat dengan cara menempatkan bawang putih utuh pada suhu tinggi dan dalam kelembapan tinggi, menyebabkan bawang putih menjadi hitam karena senyawa kecoklatan. Selanjutnya, Bawang Hitam tidak mengeluarkan rasa bawang putih yang kuat, seperti bawang putih segar. Hal ini karena perubahan pada senyawa allicin, yang menyebabkan bau yang menyengat menjadi senyawa antioksidan larut air seperti *S-allylcysteine*, *tetrahydro- β -carboline*s, alkaloid aktif secara biologis, dan senyawa mirip flavonoid (Corzo, 2007). *S-*

Allylcysteine dibentuk oleh katabolisme γ -*glutamylcysteine* dan menghambat kerusakan oksidatif yang terkait dengan penuaan dan berbagai penyakit (Collin-Gonzalez, 2012). Derivat *tetrahydro- β -carboline*, yang telah diidentifikasi dalam ekstrak bawang hitam juga menunjukkan efek antioksidan (Yoshida, 2006). Derivat *tetrahydro- β -carboline* dibentuk oleh kondensasi antara triptofan dan aldehida, serupa dengan produksi asam piruvat oleh jalur allin-allicin atau proses reaksi Maillard. Selanjutnya, beberapa penelitian telah melaporkan bahwa ekstrak bawang hitam memiliki efek antioksidan, anti-alergi, anti-diabetes, anti-inflamasi, hipokolesterolemik, hipolipidemia, dan anti-karsinogenik (Ichikawa *et al*, 2002).

2.3. Antibakteri

Antibakteri adalah senyawa yang digunakan untuk mengendalikan pertumbuhan bakteri yang bersifat merugikan. Pengendalian pertumbuhan mikroorganisme bertujuan untuk mencegah penyebaran penyakit dan infeksi, membasmi mikroorganisme pada inang yang terinfeksi, dan mencegah pembusukan serta perusakan bahan oleh mikroorganisme (Sulistyo, 1971). Antimikrobia meliputi golongan antibakteri, antimikotik, dan antiviral (Ganiswara, 1995). Mekanisme penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri oleh senyawa antibakteri dapat berupa perusakan dinding sel dengan cara menghambat pembentukannya atau mengubahnya setelah selesai terbentuk, perubahan permeabilitas membran sitoplasma sehingga menyebabkan keluarnya bahan makanan dari dalam sel, perubahan molekul protein dan asam nukleat, penghambatan kerja enzim, dan penghambatan sintesis asam nukleat dan protein. Di bidang farmasi, bahan antibakteri dikenal dengan nama antibiotik, yaitu suatu substansi kimia yang dihasilkan oleh mikroba dan dapat menghambat pertumbuhan mikroba lain. Senyawa antibakteri dapat bekerja secara bakteriostatik, bakteriosidal, dan bakteriolitik (Pelczar & Chan, 1988).

Menurut Madigan *dkk.* (2000), berdasarkan sifat toksisitas selektifnya, senyawa antibakteri mempunyai 3 macam efek terhadap pertumbuhan mikrobia yaitu:

a. Bakteriostatik

memberikan efek dengan cara menghambat pertumbuhan tetapi tidak membunuh. Senyawa bakterostatik seringkali menghambat sintesis protein atau mengikat ribosom. Hal ini ditunjukkan dengan penambahan antimikrobia pada kultur mikrobia yang berada pada fase logaritmik. Setelah penambahan zat antimikrobia pada fase logaritmik didapatkan jumlah sel total maupun jumlah sel hidup adalah tetap.

b. Bakteriosidal

memberikan efek dengan cara membunuh sel tetapi tidak terjadi lisis sel atau pecah sel. Hal ini ditunjukkan dengan penambahan antimikrobia pada kultur mikrobia yang berada pada fase logaritmik. Setelah penambahan zat antimikrobia pada fase logaritmik didapatkan jumlah sel total tetap sedangkan jumlah sel hidup menurun.

c. Bakteriolitik

Menyebabkan sel menjadi lisis atau pecah sel sehingga jumlah sel berkurang atau terjadi kekeruhan setelah penambahan antimikrobia. Hal ini ditunjukkan dengan penambahan antimikrobia pada kultur mikrobia yang berada pada fase logaritmik. Setelah penambahan zat antimikrobia pada fase logaritmik, jumlah sel total maupun jumlah sel hidup menurun. Mekanisme penghambatan antibakteri dapat dikelompokkan menjadi lima, yaitu menghambat sintesis dinding sel mikrobia, merusak keutuhan dinding sel mikrobia, menghambat sintesis protein sel mikrobia, menghambat sintesis asam nukleat, dan merusak asam nukleat sel mikrobia (Sulistyo, 1971).

Untuk mengetahui ada atau tidaknya suatu zat anti bakteri didalam suatu bahan, maka perlu adanya suatu uji yang dilakukan untuk mengetahui hal tersebut. Pada uji ini diukur respons pertumbuhan populasi mikroorganisme terhadap anti bakteri.

Tujuan uji antibakteri ini adalah untuk mengetahui dan memperoleh suatu sistem pengobatan yang efektif dan efisien. Terdapat 2 macam metode uji antibakteri yaitu metode difusi dan metode dilusi.

2.3.1. Metode Difusi

Metode difusi merupakan salah satu metode yang sering digunakan dalam uji antibakteri. Terdapat beberapa macam metode difusi yang dapat dilakukan, antara lain

- a. *Metode disc diffusion* (tes Kirby dan Bauer) untuk menentukan aktivitas agen antimikroba. Piringan yang berisi agen antimikroba diletakkan pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme yang akan berdifusi pada media agar tersebut. Area jernih mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba permukaan media agar (Atlas, 1989). Hasil pengukuran zona hambat diklasifikasikan berdasarkan Tabel 2.1. berikut:

Tabel 2.1. Standar Diameter Zona Hambat menurut Prescott (2009).

Macam obat	Diameter Zona Hambat (mm)		
	Resisten	Intermediet	Sensitif
Carbenicillin (pada <i>Proteus</i> spp. dan <i>E. coli</i>)	≤ 17	18-22	≥ 23
Carbenicillin (pada <i>Pseudomonas aeruginosa</i>)	≤ 13	14-16	≥ 17
Erythromycin	≤ 13	14-17	≥ 18
Penicillin G (pada <i>Staphylococcus</i>)	≤ 20	21-28	≥ 29
Penicillin G (pada mikroorganisme yang lain)	≤ 11	12-21	≥ 22
Streptomycin	≤ 11	12-14	≥ 15
Sulfonamida	≤ 12	13-16	≥ 17

- b. Metode *E-test* digunakan untuk mengestimasi MIC (*minimum inhibitory concentration*) atau KHM (kadar hambat

minimum), yaitu konsentrasi minimal suatu agen antimikroba untuk dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Pada metode ini digunakan strip plastik yang mengandung agen antimikroba dari kadar terendah hingga tertinggi dan diletakkan permukaan media agar yang telah ditanami mikroorganisme. Pengamatan dilakukan pada area jernih yang ditimbulkannya yang menunjukkan kadar agen antimikroba yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme pada media agar (Atlas, 1989).

- c. Metode *Ditch-plate technique*. Pada metode ini sampel uji berupa agen antimikroba yang diletakkan pada parit yang dibuat dengan cara memotong media agar dalam cawan petri pada bagian tengah secara membujur dan mikroba uji (maksimum 6 macam) digoreskan ke arah parit yang berisi agen antimikroba (Atlas, 1989).
- d. Metode *Cup-plate technique* ini serupa dengan metode disc diffusion, dimana dibuat sumur pada media agar yang telah ditanami dengan mikroorganisme dan pada sumur tersebut diberi agen antimikroba yang akan diuji (Atlas, 1989).
- e. Metode *Gradient-plate technique* ini konsentrasi agen antimikroba pada media agar secara teoretis bervariasi dari 0 hingga maksimal. Media agar dicairkan dan larutan uji ditambahkan. Campuran kemudian dituang ke dalam cawan petri dan diletakkan dalam posisi miring. Nutrisi kedua selanjutnya dihitung di atasnya (Atlas, 1989).

2.3.2. Metode Dilusi

Metode dilusi dibagi menjadi dua macam, yaitu dilusi cair (*Broth dilution*) dan dilusi padat (*Solid dilution*).

- a. Metode dilusi cair. Metode ini mengukur MIC (*minimum inhibitory concentration* atau kadar hambat minimum [KHM]) dan MBC (*minimum bactericidal concentration* atau kadar bunuh minimum [KBM]). Cara yang dilakukan adalah dengan membuat seri pengenceran agen antimikroba pada medium cair yang ditambahkan dengan mikroba uji dan

dibandingkan dengan larutan Mc Farland (Atlas, 1989). Larutan Mc Farland adalah larutan yang dipakai dalam peyetaraan konsentrasi mikroba dengan menggunakan larutan BaCl₂ 1% dan H₂SO₄ 1%. Standar kekeruhan Mc Farland ini dimaksudkan untuk menggantikan perhitungan bakteri satu per satu dan untuk memperkirakan kepadatan sel yang akan digunakan pada prosedur pengujian antimikroba. Keuntungan dari penggunaan standar Mc Farland adalah tidak dibutuhkannya waktu inkubasi yang cukup untuk memperoleh jumlah kepadatan bakteri yang diinginkan. Sedangkan kerugiannya, akan terjadi perbedaan pandangan untuk menilai tingkat kekeruhan dari sel bakteri. Untuk menilai kekeruhannya dapat digunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 600 nm (setara dengan panjang gelombang *E.coli*) (Sutton, 2011). Adapun Tabel 2.2. menunjukkan standar Mc Farland.

Tabel 2.2. Standar Mc Farland menurut Sutton (2011)

Skala Mc Farland	CFU (10 ⁸ /ml)	1% BaCl ₂ / 1% H ₂ SO ₄ (ml)	Absorbansi
0,5	150	0,05 / 9,95	0,132
1	300	0,1 / 9,9	0,257
2	600	0,2 / 9,8	0,451
3	900	0,3 / 9,7	0,582

Larutan uji agen antimikroba pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan mikroba uji ditetapkan sebagai KHM. Selanjutnya dikultur ulang pada media cair tanpa penambahan mikroba uji ataupun agen antimikroba, dan diinkubasi selama 18-24 jam . media cair yang tetap terlihat jernih setelah inkubasi ditetapkan sebagai KBM (Atlas, 1989).

- b. Metode dilusi padat Metode ini serupa dengan metode dilusi cair namun menggunakan media padat (solid). Keuntungan metode ini adalah satu konsentrasi agen antimikroba yang

diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji (Atlas, 1989).

2.4. Mikroorganisme

Mikroorganisme merupakan semua makhluk yang berukuran beberapa mikron atau lebih kecil lagi. Yang termasuk golongan ini adalah bakteri, cendawan atau jamur tingkat rendah, ragi yang menurut sistematik masuk golongan jamur, ganggang, hewan bersel satu atau protozoa, dan virus yang hanya nampak dengan mikroskop elektron (Dwidjoseputro, 1990). Mikroorganisme umumnya terdapat di mana-mana, seperti di dalam tanah, di lingkungan akuatik, berkisar dari aliran air sampai lautan, dan atmosfer (Pelczar & Chan, 1986).

2.4.1. Bakteri

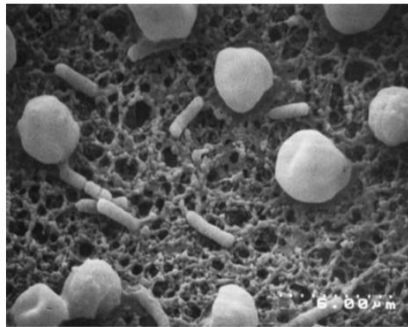
Bakteri merupakan uniseluler, pada umumnya tidak berklorofil, ada beberapa yang fotosintetik dan produksi aseksualnya secara pembelahan dan bakteri mempunyai ukuran sel kecil dimana setiap selnya hanya dapat dilihat dengan bantuan mikroskop. Bakteri pada umumnya mempunyai ukuran sel 0,5-1,0 μm kali 2,0-5,0 μm , dan terdiri dari tiga bentuk dasar yaitu bentuk bulat atau kokus, bentuk batang atau Bacillus, bentuk spiral (Dwidjoseputro, 1985).

Bakteri tumbuh dengan cara pembelahan biner satu sel membelah menjadi dua sel. Waktu generasi yaitu waktu yang dibutuhkan oleh sel untuk membelah, bervariasi tergantung dari spesies dan kondisi pertumbuhan. Semua bakteri yang tumbuh pada makanan bersifat heterotropik yaitu membutuhkan zat organik untuk pertumbuhannya. Dalam metabolisme bakteri heterotropik menggunakan protein, lemak, karbohidrat dan komponen makanan lainnya sebagai sumber karbon dan energi untuk pertumbuhannya (Fardiaz, 1989). Berikut beberapa bakteri yang umum ditemukan.

a. *Escherichia coli*

Escherichia coli merupakan bakteri Gram negatif berbentuk batang pendek yang memiliki panjang sekitar 2 μ m, diameter 0,7 μ m, lebar 0,4-0,7 μ m dan bersifat anaerob fakultatif. *E. coli* membentuk koloni yang bundar, cembung, dan halus dengan tepi yang nyata (Smith-Keary, 1988).

E. coli (Gambar 2.3.) adalah anggota mikrobia normal usus. *E. coli* berperan penting dalam sintesis vitamin K, konversi pigmen-pigmen empedu, asam-asam empedu dan penyerapan zat-zat makanan. *E. coli* termasuk ke dalam bakteri heterotrof yang memperoleh makanan berupa zat organik dari lingkungannya karena tidak dapat menyusun sendiri zat organik yang dibutuhkannya. Zat organik diperoleh dari sisa organisme lain. Bakteri ini menguraikan zat organik dalam makanan menjadi zat anorganik, yaitu CO₂, H₂O, energi, dan mineral. Di dalam lingkungan, bakteri pembusuk ini berfungsi sebagai pengurai dan penyedia nutrisi bagi tumbuhan (Ganiswarna, 1995).



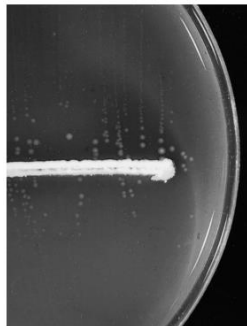
Gambar 2.3 *Escherichia coli* (George *et al.*, 2007).

E. coli menjadi patogen jika jumlah bakteri ini dalam saluran pencernaan meningkat atau berada di luar usus. *E. coli* menghasilkan enterotoksin yang menyebabkan beberapa kasus diare. *E. coli* berasosiasi dengan entero patogenik menghasilkan enterotoksin pada sel epitel (Jawetz *et al.*, 1995).

b. *Staphylococcus aureus*

S. aureus adalah bakteri yang menyebabkan keracunan makanan dengan penyebaran yang cepat. *S. Aureus* biasanya ditemukan di tanah, air dan udara serta dapat ditemukan pada tubuh manusia yaitu pada bagian hidung atau pada kulit.

S. aureus (Gambar 2.4.) adalah bakteri Gram-positif, non-spora yang termasuk dalam Genus *Staphylococcus*. Genus *Staphylococcus* terbagi menjadi 32 spesies dan subspecies *S. aureus* Menghasilkan enterotoksin staphylococcal (SE) dan bertanggung jawab untuk hampir semua keracunan makanan (Montville & Matthews, 2008). *S. intermedius*, Salah satu spesies *Staphylococcus* yang umumnya terkait dengan anjing dan Hewan lain, juga bisa menghasilkan SE dan jarang dikaitkan dengan keracunan makanan akibat stafilokokus (Le Loir *et al.*, 2003).



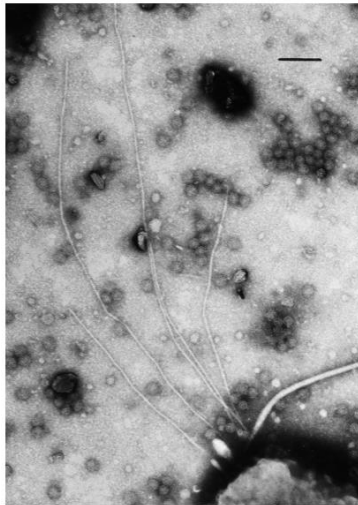
Gambar 2.4. *Staphylococcus aureus* (Noel *et al.*, 2010).

Pertumbuhan dan perkembangbiakan *S. aureus* tergantung pada sejumlah faktor lingkungan seperti suhu, kelembapan, pH, adanya oksigen. Parameter pertumbuhan fisik ini berbeda pada setiap strain *S. aureus*. Kisaran suhu untuk pertumbuhan *S. aureus* adalah 7-48°C, dengan suhu optimum 37°C (Stewart, 2003).

c. *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa (Gambar 2.5.) berbentuk batang dengan ukuran sekitar 0,6 x 2 µm. Bakteri ini terlihat sebagai

bakteri tunggal, berpasangan, dan terkadang membentuk rantai yang pendek. *P. aeruginosa* termasuk bakteri gram negatif. Bakteri ini bersifat aerob, katalase positif, oksidase positif, tidak mampu memfermentasi tetapi dapat mengoksidasi glukosa/karbohidrat lain, tidak berspora, tidak mempunyai selubung (sheat) dan mempunyai flagel monotrika (flagel tunggal pada kutub) sehingga selalu bergerak. Bakteri ini dapat tumbuh di air suling dan akan tumbuh dengan baik dengan adanya unsur N dan C. Suhu optimum untuk pertumbuhan *P. aeruginosa* adalah 42°C. *P. aeruginosa* mudah tumbuh pada berbagai media pembiakan karena kebutuhan nutrisinya sangat sederhana. Di laboratorium, medium paling sederhana untuk pertumbuhannya digunakan asetat (untuk karbon) dan ammonium sulfat (untuk nitrogen) (Boel, 2004).



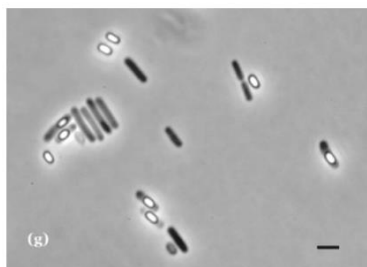
Gambar 2.5. *Pseudomonas aeruginosa* (Noel *et al.*, 2010).

Pseudomonas aeruginosa sering kali merupakan bakteri normal yang melekat pada tubuh kita dan tidak akan menimbulkan penyakit selama pertahanan tubuh normal. Karena itu, upaya

pencegahan yang paling baik adalah dengan menjaga daya tahan tubuh agar tetap tinggi (Boel, 2004).

d. *Bacillus subtilis*

Bacillus subtilis (Gambar 2.6.) adalah bakteri Gram positif yang biasanya ditemukan di dalam tanah. Bakteri ini mempunyai kemampuan membentuk pertahanan diri yang kuat, dengan membentuk endospora yang bersifat melindungi sehingga dapat tahan pada kondisi lingkungan yang ekstrim (Nakano & Zuber, 1998). *Bacillus subtilis* tidak secara langsung termasuk sebagai patogen pada manusia, bagaimanapun *Bacillus subtilis* dapat mengkontaminasi makanan tetapi tidak sampai menyebabkan makanan menjadi beracun (Ryan & Ray, 2004). Sporangya dapat bertahan hidup pada pemanasan ekstrim yang seringkali digunakan untuk memasak makanan dan juga mampu membuat produk pangan roti menjadi busuk atau rusak (Gielen *et al.*, 2004).



Gambar 2.6. *B. subtilis* (George *et al.*, 2007).

2.5. Ekstraksi

Ekstraksi adalah penyarian zat-zat berkhasiat atau zat-zat aktif dari bagian tanaman obat, hewan dan beberapa jenis ikan termasuk biota laut. Zat-zat aktif terdapat di dalam sel, namun sel tanaman dan hewan berbeda demikian pula ketebalannya, sehingga diperlukan metode ekstraksi dengan pelarut tertentu dalam mengekstraksinya (Harbone, 1987; Dirjen POM, 1986).

Tujuan ekstraksi bahan alam adalah untuk menarik komponen kimia yang terdapat pada bahan alam. Ekstraksi ini didasarkan pada prinsip perpindahan massa komponen zat ke dalam pelarut, dimana perpindahan mulai terjadi pada lapisan antar muka kemudian berdifusi masuk ke dalam pelarut (Harbone, 1987; Dirjen POM, 1986).

Jenis ekstraksi bahan alam yang sering dilakukan adalah ekstraksi secara panas dengan cara refluks dan penyulingan uap air dan ekstraksi secara dingin dengan cara maserasi, perkolasi dan alat soxhlet (Dirjen POM, 1986).

a. Ekstraksi secara Soxhletasi

Ekstraksi dengan cara ini pada dasarnya ekstraksi secara berkesinambungan. Cairan penyari dipanaskan sampai mendidih. Uap penyari akan naik melalui pipa samping, kemudian diembunkan lagi oleh pendingin tegak. Cairan penyari turun untuk menyari zat aktif dalam simplisia. Selanjutnya bila cairan penyari mencapai sifon, maka seluruh cairan akan turun ke labu alas bulat dan terjadi proses sirkulasi. Demikian seterusnya sampai zat aktif yang terdapat dalam simplisia tersari seluruhnya yang ditandai jernihnya cairan yang lewat pada tabung sifon (Harbone, 1987).

b. Ekstraksi secara Perkolasi

Perkolasi dilakukan dengan cara dibasahkan 10 bagian simplisia dengan derajat halus yang cocok, menggunakan 2,5 bagian sampai 5 bagian cairan penyari dimasukkan dalam bejana tertutup sekurang-kurangnya 3 jam. Massa dipindahkan sedikit demi sedikit ke dalam perkolator, ditambahkan cairan penyari. Perkolator ditutup dibiarkan selama 24 jam, kemudian kran dibuka dengan kecepatan 1 ml permenit, sehingga simplisia tetap terendam. Filtrat dipindahkan ke dalam bejana, ditutup dan dibiarkan selama 2 hari pada tempat terlindung dari cahaya (Harbone, 1987).

c. Ekstraksi secara Maserasi

Maserasi dilakukan dengan cara memasukkan 10 bagian simplisia dengan derajat yang cocok ke dalam bejana, kemudian dituangi dengan penyari 75 bagian, ditutup dan dibiarkan selama 5

hari, terlindung dari cahaya sambil diaduk sekali-kali setiap hari lalu diperas dan ampasnya dimaserasi kembali dengan cairan penyari. Penyarian diakhiri setelah pelarut tidak berwarna lagi, lalu dipindahkan ke dalam bejana tertutup, dibiarkan pada tempat yang tidak bercahaya, setelah dua hari lalu endapan dipisahkan (Harbone, 1987).

d. Ekstraksi secara Refluks

Ekstraksi dengan cara ini pada dasarnya adalah ekstraksi berkesinambungan. Bahan yang akan diekstraksi direndam dengan cairan penyari dalam labu alas bulat yang dilengkapi dengan alat pendingin tegak, lalu dipanaskan sampai mendidih. Cairan penyari akan menguap, uap tersebut akan diembunkan dengan pendingin tegak dan akan kembali menyari zat aktif dalam simplisia tersebut, demikian seterusnya. Ekstraksi ini biasanya dilakukan 3 kali dan setiap kali diekstraksi selama 4 jam (Harbone, 1987).

e. Ekstraksi secara Penyulingan

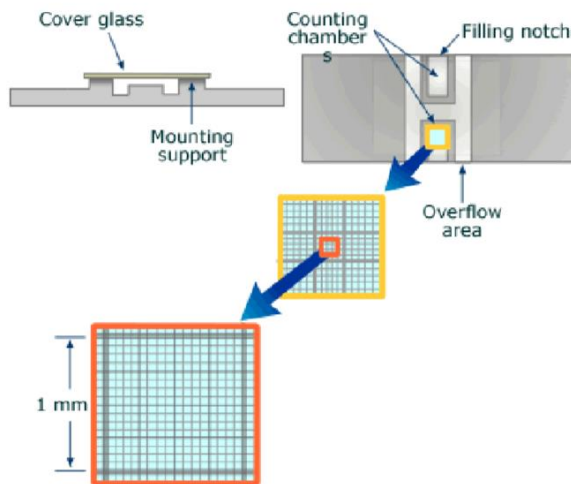
Penyulingan dapat dipertimbangkan untuk menyari serbuk simplisia yang mengandung komponen kimia yang mempunyai titik didih yang tinggi pada tekanan udara normal, yang pada pemanasan biasanya terjadi kerusakan zat aktifnya. Untuk mencegah hal tersebut, maka penyari dilakukan dengan penyulingan (Harbone, 1987).

2.6. Metode Perhitungan Sel

Berbagai metode telah dikembangkan untuk menghitung jumlah mikroorganisme. Menghitung jumlah populasi mikroorganisme dapat ditentukan dengan beberapa cara yaitu perhitungan langsung, pengukuran langsung, perhitungan tidak langsung, dan perkiraan tidak langsung (Brosnan, 2000). Haemocytometer merupakan alat yang berfungsi untuk menghitung sel, antara lain mikroorganisme dan sel darah, yang berukuran mikroskopis. Haemocytometer ditemukan oleh Louis Charles Malassez yang pada awalnya terdiri dari sebuah lapisan kaca tebal dengan lekukan persegi panjang dan terdapat ruangruang kamar. Ruang tersebut diukir dengan laser grid yang

menggores garis secara tegak lurus (Lestienne, 2005). Haemocytometer dapat menghitung jumlah sel atau partikel dalam suatu volume cairan tertentu, sehingga dapat diketahui konsentrasi sel dalam cairan secara keseluruhan. Ruang hitung terdiri dari 9 kotak besar dengan luas 1 mm² (Gambar 2.6). Menurut Freshney (2005), sel bakteri yang tersuspensi akan memenuhi volume ruang hitung sehingga didapatkan rumus perhitungan ruang R sebagai berikut:

$$\text{Concentration cell (cells/ml)} = \frac{\text{Total cells counted} \times 10^4 \times \text{dillution factor}}{\text{Total Square}}$$



Gambar 2.7 Haemocytometer (Martin, 2007).

Selain cahaya, faktor perbesaran mikroskop juga berpengaruh (Hurrel, 2004). Haemocytometer memiliki kelemahan dan kelebihan pada proses penghitungan bakteri secara langsung. Kelebihannya antara lain ialah cepat dalam menghasilkan data sehingga tidak perlu menunggu lama dalam menghitung kepadatan sel, serta dapat mengamati morfologi sel, mengevaluasi

homogenitas, dan dapat mendeteksi kontaminan. Sedangkan kelemahannya ialah tidak dapat membedakan antara sel yang mati dengan yang hidup apabila tidak menggunakan suatu larutan pewarna untuk membedakannya (Hurrel, 2004).

BAB III METODOLOGI

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Departemen Biologi Institut Teknologi Sepuluh Nopember mulai dari bulan Juli hingga September 2017.

3.2 Pembuatan Bawang Hitam

Bawang putih sebanyak 2 kg dipilih yang berukuran besar, tidak busuk, dan masih utuh menyatu dengan siung yang lain bukan yang pecah. Bawang putih dibiarkan tanpa dikupas dan dibiarkan dalam keadaan kering dan tidak lembab. Bawang putih sebanyak 2 kg dibagi menjadi 2 yaitu masing-masing seberat 1 kg. Satu kilogram bawang putih pertama dimasukkan kedalam *rice cooker* dan ditata tidak saling tindih untuk mencegah kerusakan bentuk bawang hitam. *Rice cooker* ditutup dan diatur dalam mode *keep warm* (suhu $\pm 70^{\circ}$ - 80° C) dan dibiarkan selama 12 hari. Setelah 12 hari, bawang putih dikeluarkan dan dipilih bawang hitam yang memiliki kulit siung tidak gosong dan bawang putih didalamnya berwarna hitam dan kisut sehingga didapatkan bawang hitam. Satu kilogram bawang putih yang lain dibiarkan sebagai kontrol.

3.3. Pembuatan Ekstrak Bawang Hitam

Ekstrak bawang hitam dibuat dengan menggunakan metode maserasi atau perendaman dengan beberapa modifikasi (Harbone, 2002). Langkah awal yang dilakukan adalah kulit bawang hitam dikupas dan dihaluskan menggunakan mesin penghalus (*blender*) dan dikeringkan dalam suhu ruang. Serbuk bawang hitam kemudian direndam dalam etanol 70% dengan perbandingan 1:10 (10g serbuk dalam 100ml etanol) selama 24 jam (Zuhrotun *et al.*, 2010), dan kemudian disaring dengan menggunakan corong Buchener yang dialasi dengan kertas saring *Whatman* nomor 42. Filtrat kemudian diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* di Laboratorium Unit Layanan

Pengujian Fakultas Farmasi Universitas Airlangga. Filtrat dimasukkan kedalam labu alas bulat sampel pada rotor penggerak dan labu destilat yang diatur sesuai titik didih air yaitu 100°C. Kemudian penangas air (*water bath*) dinyalakan yang dilanjutkan dengan menyalakan rotavorator dan pipa vakum. Pada suhu 78,29°C etanol akan menguap dan dilepaskan melalui lubang kondensor, kemudian air dari hasil perendaman akan diuapkan dan dikondensasikan kembali. Filtrat hasil kondensasi disebut sebagai ekstrak bawang hitam dengan konsentrasi 100% (Kayaputri, 2014). Ekstrak bawang hitam kemudian diencerkan dengan aquades steril sampai diperoleh konsentrasi ekstrak 25%, 50%, 75%, dan 100%. Pembuatan seri konsentrasi ekstrak menggunakan perhitungan seperti yang dilakukan oleh Rahayu (2014) yaitu sebagai berikut:

$$V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$$

Dimana:

- V_1 = Volume ekstrak yang dibutuhkan
- C_1 = Konsentrasi sebelum pengenceran
- V_2 = Volume yang akan dibuat
- C_2 = Konsentrasi yang akan dibuat

Setelah diencerkan, ekstrak disimpan didalam botol steril dan disimpan didalam lemari pendingin sampai akan digunakan saat pengujian.

3.4. Pembuatan Media dan Sterilisasi

Media yang dibuat adalah *Nutrient Broth* (NB) dan *Nutrient agar* (NA). NB dibuat dari campuran 5g pepton; 3g ekstrak daging dalam 1L aquades yang diaduk dan dilarutkan menggunakan *magnetic stirrer*. Kemudian media NA dibuat dari komposisi media NB, tetapi ditambah 15g agar. Dengan perlakuan yang sama, campuran diaduk dan dipanaskan hingga larut (Presscot, 2002).

Cawan Petri dan tabung reaksi dicuci bersih lalu dikeringkan. Cawan Petri dibungkus dengan kertas *Yellow Pages*,

sedangkan tabung reaksi dimasukkan kedalam gelas beker. Kemudian kertas cakram dimasukkan ke dalam cawan petri bersih dan di *warp*. Media yang telah dibuat dan semua alat disterilisasi dalam autoklaf 121°C dengan tekanan 1,5 atm selama 15 menit (Pelczar, 2005). Setelah disterilisasi, semua alat dan bahan disimpan dalam *Laminar Air Flow* (LAF) yang sebelumnya sudah disterilisasi dengan lampu UV selama 45 menit dan dibersihkan dengan alkohol 70%. NA dituang ke dalam cawan Petri sebanyak 15ml dan dipadatkan untuk digunakan saat metode difusi.

3.5. Peremajaan Isolat Bakteri Uji dan Pembuatan Starter

Kultur murni bakteri uji (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Bacillus subtilis*) yang terdapat di Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Departemen Biologi ITS masing-masing disubkultur terlebih dahulu dengan bertahap. Pertama sebanyak 1 ose isolat murni dimasukkan pada 10ml NB, kemudian diinkubasi selama 24 jam. Selanjutnya isolat bakteri sebanyak 2,5 ml dari 10 ml NB pertama dimasukkan pada 25 ml medium NB baru dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Selanjutnya sebanyak 6 ml isolat bakteri dimasukkan ke dalam 60 ml medium NB dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Starter yang digunakan berisi isolat bakteri uji dengan kepadatan sel 10^8 sel/ml yang dihitung menggunakan *Haemocytometer*. Starter bakteri diambil sebanyak 1 tetes dan ditetaskan pada kotak *Haemocytometer*. *Haemocytometer* adalah metode perhitungan secara mikroskopis. Ruang hitung terdiri dari 9 kotak besar dengan luas 1 mm². Satu kotak besar di tengah, dibagi menjadi 25 kotak sedang dengan panjang 0,05 mm. Satu kotak sedang dibagi lagi menjadi 16 kotak kecil. Dengan demikian satu kotak besar tersebut berisi 400 kotak kecil. Tebal dari ruang hitung ini adalah 0,1 mm. Sel bakteri yang tersuspensi akan memenuhi volume ruang hitung tersebut sehingga jumlah bakteri per satuan volume dapat diketahui (Mikapin, 2012).

3.6. Metode Difusi

Pertama, kertas saring *Whatman* no 42 dipotong berbentuk cakram dengan diameter 0,5cm. Kertas cakram tersebut kemudian direndam masing-masing dalam larutan ekstrak 100%, 75%, 50%, 25%, dan 0% sampai jenuh (5 detik). Starter bakteri uji diinokulasikan menggunakan *swab* kapas pada NA padat secara aseptis. Kertas cakram yang telah dijenuhkan dengan masing-masing konsentrasi ekstrak (100%, 75%, 50%, 25%, dan 0%) diletakkan pada bagian atas media NA yang sudah mengandung bakteri uji dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Perlakuan ini dilakukan sebanyak 2 kali ulangan. Area jernih (zona hambat) di sekeliling cakram yang terbentuk setelah inkubasi diukur menggunakan jangka sorong.

3.7. Metode Dilusi

Konsentrasi ekstrak yang menunjukkan zona hambat terbesar pada uji difusi digunakan sebagai konsentrasi awal perlakuan dilusi. Metode dilusi dilakukan dalam 2 tahap (Atlas, 1989). Tahap pertama yaitu tabung reaksi diisi dengan starter bakteri uji dengan kepadatan 10^8 sel/ml sebanyak 2ml dan ditambah 2ml ekstrak uji pada konsentrasi terbaik pada metode difusi dengan beda konsentrasi sebesar 5%, kemudian diinkubasi selama 24 jam. Misalkan konsentrasi ekstrak 100% menunjukkan zona bening yang paling besar, maka dibuat interval 5% kebawah hingga 6 tingkat yaitu 100%, 95%, 90%, 85%, 80% dan yang terakhir 75%. Setelah itu, biakan bakteri uji diambil sebanyak 1 ose dan digoreskan pada NA dalam cawan Petri dan diinkubasi kembali selama 24 jam. Apabila tidak terjadi pertumbuhan bakteri pada medium, maka konsentrasi ekstrak dengan nilai terendah dianggap sebagai *Minimum Bactericidal Concentrate* (MBC) atau konsentrasi bunuh minimum (KBM).

BAB IV

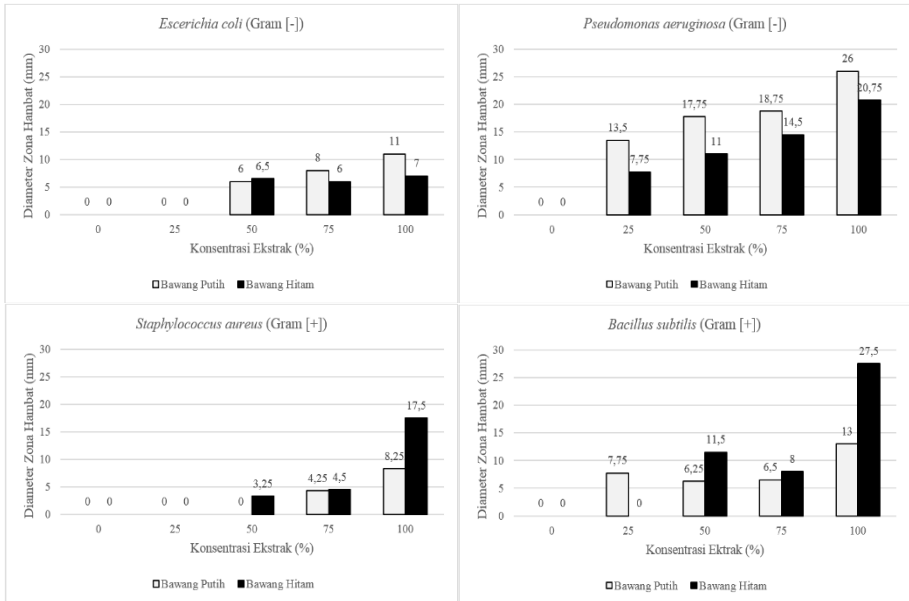
HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Zona Hambat yang Dibentuk oleh Ekstrak Bawang Hitam

Bawang hitam dibuat dengan cara menempatkan bawang putih utuh pada suhu tinggi dan dalam kelembaban tinggi, menyebabkan bawang putih menjadi hitam. Bawang hitam tidak mengeluarkan rasa bawang putih yang kuat, seperti bawang putih segar. Hal ini karena perubahan pada senyawa allicin, yang menyebabkan bau yang menyengat menjadi senyawa antioksidan larut air seperti *S-allylcysteine*, *tetrahydro- β -carboline*s, alkaloid aktif secara biologis, dan senyawa mirip flavonoid (Corzo, 2007). Bawang hitam merupakan produk olahan dari bawang putih yang dipanaskan pada suhu 65° – 80°C dengan kelembapan 70% – 80% dari suhu kamar selama satu bulan (Wang *et al*, 2010). Pembuatan bawang hitam sebenarnya sudah semakin canggih dan sudah menjadi skala industri, tetapi pembuatan bawang hitam dapat disederhanakan dengan menggunakan *rice cooker* yang diatur dalam mode *heat* yang memiliki kisaran suhu 70°-80°C selama kurang lebih 9 hingga 12 hari sampai didapat bawang berwarna hitam tetapi tidak gosong. Bawang hitam memiliki warna hitam, ringan karena kadar airnya berkurang dan mempunyai aroma serta rasa yang tidak terlalu menyengat seperti bawang putih.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keberadaan zat antibakteri dalam bawang hitam berdasarkan zona hambat. Terdapat dua cara metode uji antibakteri yaitu metode difusi dan metode dilusi. Masing-masing metode difusi dan dilusi memiliki beberapa macam metode yang bisa dilakukan (Atlas, 1989). Metode difusi Kirby-Bauer dan metode dilusi padat yang dimodifikasi dipilih sebagai metode yang dipakai dalam penelitian ini karena lebih mudah dan sederhana untuk dilakukan. Penelitian ini menggunakan bakteri uji *Escherichia coli*, dan *Pseudomonas aeruginosa*, sebagai perwakilan bakteri Gram (-), serta *Staphylococcus aureus*, dan *Bacillus subtilis* sebagai perwakilan

bakteri Gram (+). Kemampuan ekstrak bawang putih dan bawang hitam dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji menggunakan uji difusi terdapat pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1. Histogram Rata-Rata Diameter Zona Hambat Ekstrak Bawang Putih dan Bawang Hitam terhadap Bakteri Uji (mm) Menggunakan Metode Difusi.

Dari Gambar 4.1. diketahui bahwa kemampuan ekstrak dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji berbeda-beda pada setiap konsentrasi. Secara umum, semakin tinggi konsentrasi ekstrak, semakin besar pula zona hambat yang terbentuk. Rata-rata kemampuan ekstrak dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji yang ditunjukkan dengan adanya zona hambat dengan diameter sebesar 0-15 mm dimana hal tersebut tergolong dalam antibakteri yang bersifat resisten sampai *intermediate* (Prescott, 2009). Uji difusi dilakukan untuk mengetahui nilai konsentrasi terendah

ekstrak yang membentuk zona hambat. Konsentrasi terendah tersebut disebut dengan nilai konsentrasi hambat minimum (KHM).

Dari Gambar 4.1. terlihat perbedaan pengaruh ekstrak terhadap bakteri uji dan nilai KHM yang terbentuk. Ekstrak bawang putih pada konsentrasi ekstrak 25% dapat menghambat pertumbuhan *P. aeruginosa* dan *B. subtilis*. Pada konsentrasi ekstrak 50%, ekstrak bawang putih dapat menghambat pertumbuhan *E. coli*, dan pada konsentrasi ekstrak 75% dapat menghambat pertumbuhan *S. aureus*. Peningkatan nilai konsentrasi ekstrak bawang putih berbanding lurus dengan besarnya zona hambat, seiring dengan meningkatnya nilai konsentrasi ekstrak maka besar zona hambat semakin besar pula.

Kemudian pada ekstrak bawang hitam dapat menghambat pertumbuhan *P. aeruginosa* pada konsentrasi ekstrak 25%. Pada konsentrasi ekstrak 50%, ekstrak bawang hitam dapat menghambat pertumbuhan *E. coli*, *S. aureus*, dan *B. subtilis*. Peningkatan nilai konsentrasi ekstrak bawang hitam berbanding lurus dengan besarnya zona hambat yang terbentuk, semakin meningkat konsentrasi ekstrak maka semakin besar pula zona hambat yang terbentuk. Dari uji tersebut diketahui bahwa nilai KHM pada setiap ekstrak pada bakteri uji memiliki nilai yang berbeda. Ukuran zona hambat ini tergantung kepada kecepatan difusi antibakteri, derajat sensitivitas mikroorganisme, dan kecepatan pertumbuhan bakteri (Soleha, 2015).

Dari uji difusi ini (uji KHM) menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak 75% berpengaruh tinggi pada pertumbuhan bakteri uji dengan besar diameter zona hambat sebesar 5-25mm. Selanjutnya konsentrasi ekstrak 75% - 100% digunakan sebagai batasan interval untuk uji dilusi. Uji dilusi dilakukan untuk mendapatkan nilai konsentrasi bunuh minimum (KBM) dari ekstrak bawang putih maupun bawang hitam. Uji dilusi yang dilakukan melalui 2 tahap, yaitu tahap pertama adalah inkubasi cair dan tahap kedua adalah inkubasi padat pada nutrient agar (NA). Medium NA merupakan salah satu jenis medium kompleks yang

terdiri dari pepton, dan *yeast* ekstrak. Pepton merupakan produk pemecahan protein oleh enzim yang menghasilkan polipeptida kecil yang dapat langsung dimanfaatkan oleh mikroorganisme, sedangkan *yeast* ekstrak merupakan sumber vitamin, koenzim, dan nukleosida. Oleh karena itu NA banyak digunakan untuk kultivasi banyak jenis mikroorganisme heterotrof (Black dan Black, 2012). Nilai KBM pada penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 4.1. dibawah ini.

Tabel 4.1. Nilai Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari Ekstrak Bawang Putih dan Bawang Hitam terhadap Bakteri Uji.

		Konsentrasi	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>B. subtilis</i>
Konsentrasi Bunuh Minimum	Bawang Putih	75%	+	+	+	+
		80%	-	+	+	+
		85%	-	+	+	+
		90%	-	+	+	+
		95%	-	-	+	+
		100%	-	-	-	-
	Bawang Hitam	75%	+	+	+	+
		80%	+	+	+	+
		85%	-	+	+	+
		90%	-	-	+	+
		95%	-	-	+	+
		100%	-	-	-	-

Keterangan: (+) Bakteri uji dapat tumbuh. (-) Bakteri uji tidak dapat tumbuh.

Dari Tabel 4.1 diketahui bahwa ekstrak bawang putih maupun bawang hitam memiliki nilai KBM yang berbeda. Konsentrasi bunuh minimum ekstrak bawang putih pada *E. coli* adalah konsentrasi ekstrak 80%, *S. aureus* pada konsentrasi ekstrak 95%, dan KBM ekstrak bawang putih pada *P. aeruginosa* dan *B. subtilis* adalah 100%. Konsentrasi bunuh minimum ekstrak

bawang hitam pada *E. coli* adalah konsentrasi ekstrak 85%, *S. aureus* pada konsentrasi ekstrak 90%, dan pada *P. aeruginosa* serta *B. subtilis* adalah pada konsentrasi ekstrak 100%.

Dalam melawan zat antibakteri ekstrak bawang putih dan bawang hitam, *E. coli* dan *S. aureus* menunjukkan hasil yang lebih resisten di antara bakteri uji yang lain. *E. coli* merupakan bakteri Gram (-) yang resisten terhadap sulfonamida pada konsentrasi tinggi. Ketahanan terhadap sulfonamida pada *E. coli* dapat terjadi akibat mutasi kromosom gen DHPS (Perreten, 2003). Aliin yang diduga sebagai zat antibakteri pada bawang putih dan bawang hitam merupakan organosulfur yang memiliki ikatan rangkap antara belerang (S) dan oksigen (O) seperti pada sulfonamida yang merupakan gugus fungsional dari gugus sulfonil dan gugus amina. Sedangkan *S. aureus* memiliki dinding sel yang sangat tebal dan kental dibandingkan dengan bakteri gram positif lainnya (Freeman, 2006). Ketebalan ini membuat hampir tidak mungkin bagi banyak obat antibakteri memasuki sel (Freeman, 2006). Dinding selnya mengandung peptidoglikan dan mengandung molekul asam ribitoltechoic yang spesifik untuk *S. aureus* dan bertindak sebagai antigen. Asam ribitoltechoic bekerja untuk meningkatkan virulensi mikroorganisme (Ryan, 2004).

Dari data yang didapat dari penelitian ini menunjukkan bahwa aktivitas zat antibakteri yang terkandung dalam bawang putih dan bawang hitam tidak memiliki perbedaan bila ditinjau dari parameter zona hambat dan pertumbuhan bakteri uji. Zona hambat yang terbentuk dan tidak adanya pertumbuhan bakteri uji pada NA diduga karena adanya allicin. Menurut Borhan-Mojabi *et al.* (2012) yang melakukan penelitian terhadap bawang putih menyimpulkan bahwa ekstrak bawang putih dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Hal ini disebabkan oleh zat yang bernama allicin. Allicin yang terkandung dalam ekstrak bawang putih memiliki aktivitas sebagai antibakteri dengan menghambat sintesis DNA, RNA, dan protein yang penting untuk pertumbuhannya (Londhe *et al.*, 2014; Deresse, 2014; Benkeblia, 2014). Aliin pada bawang putih mentah yang dipotong atau dihancurkan akan teroksidasi secara spontan

menjadi allicin dan akan bertahan beberapa jam setelahnya (Salima, 2015). Aliin yang diduga sebagai zat antibakteri pada bawang putih dan bawang hitam merupakan organosulfur yang mirip dengan sulfonamida (Freeman, 2006). Sehingga dari uji zona hambat dapat diketahui seberapa besar respon bakteri uji terhadap ekstrak bawang putih dan bawang hitam yang diduga sebagai sulfonamida menurut standar zona hambat yang dilakukan oleh Presscot (2009) yaitu *E. (Gram -)*, *B. subtilis (Gram +)*, dan *S. aureus (Gram +)* resisten terhadap ekstrak bawang putih dan bawang hitam, sedangkan *P. aeruginosa (Gram -)* sensitif terhadap ekstrak bawang putih dan ekstrak bawang hitam.

Namun, Choi *et al.* (2014) menyebutkan bahwa pemanasan dapat menurunkan kandungan aliin sebagai prekursor allicin. Bawang hitam merupakan olahan bawang putih yang dipanaskan selama beberapa hari (Wang *et al.*, 2010). Park *et al.* (2014) menambahkan bahwa temperatur dan waktu pemanasan mempengaruhi turunnya kandungan aliin. Park *et al.* (2014) juga menganjurkan temperatur dan waktu pemanasan dilakukan pada suhu 40°C selama 15 hari. Dalam penelitian ini diduga aliin yang diduga sebagai zat antibakteri menurun karena pemanasan yang dilakukan saat pembuatan bawang hitam terlalu tinggi sehingga zona hambat yang terbentuk dan pertumbuhan bakteri uji antara ekstrak bawang hitam dan putih tidak menunjukkan perbedaan yang besar. Kesalahan pemanasan yang dilakukan terjadi karena pembuatan bawang hitam secara sederhana pada penelitian ini menggunakan alat rumah tangga yang secara umum telah dimiliki oleh masyarakat. Hal ini menunjukkan bahwa pembuatan bawang hitam dalam skala rumah tangga dengan menggunakan *rice cooker* tidak disarankan.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan:

1. *Eschericia coli* (Gram -), *Bacillus subtilis* (Gram +), dan *Staphylococcus aureus* (Gram +) resisten terhadap ekstrak bawang putih dan bawang hitam, sedangkan *Pseudomonas aeruginosa* (Gram -) sensitif terhadap ekstrak bawang putih dan ekstrak bawang hitam.
2. Konsentrasi bunuh minimum ekstrak bawang hitam terhadap *E. coli* adalah 85%, *S. aureus* adalah 90%, dan pada *P. aeruginosa* serta *B. subtilis* adalah 100%. Kemudian konsentrasi bunuh minimum ekstrak bawang putih terhadap *E. coli* adalah 80%, *S. aureus* adalah 95%, dan pada *P. aeruginosa* serta *B. subtilis* adalah 100%.

5.2 Saran

Untuk penelitian selanjutnya sebaiknya dilakukan analisa zat antibakteri yang terkandung pada bawang hitam, serta perlu dilakukan uji biokimia yang lebih mendalam.

“Halaman Ini Sengaja dikosongkan”

DAFTAR PUSTAKA

- Ankri, S., and Mirelman, D. 1999. Antimicrobial properties of allicin from garlic. **Microbes Infect** 1:125-129.
- Ayoola, G. A. 2008. Phytochemical screening and antioxidant activities of some selected medicinal plants used for malaria therapy in Southwestern Nigeria. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**7(3): 1019-1024.
- Barnes, J., Anderson, L.A., and Philips, J.D. 2007. **Herbal Medicines**, 3th ed. London: Pharmaceutical Press.
- Benkeblia N. 2014. **Antimicrobial activity of essential oil extracts of various onions (*Allium cepa*) and garlic (*Allium sativum*)**. Lebensm.-Wiss. u.-Technol. 37: [263–268].
- Black, J.G., dan Black, L.J., 2012. **Microbiology Principles and Exploration, 8th Edition**. USA: John Wiley and Sons Inc.
- Blania, G., Spangenberg, B. 1991. Formation of allicin from dried garlic (*Allium sativum*): a simple HPTLC method for simultaneous determination of allicin and ajoene in dried garlic and garlic preparations. **Planta Med** 57:371-5.
- Block, E., Barany, G., Belman, S., Solomon, J., Segal, A. 1989. Inhibition of soybean lipoxygenase and mouse skin tumor promotion by onion and garlic components. **J Biochem Toxicol** 4:151-60.
- Bongiorno, Peter, B., Patrick, M.F., LoGiudice, P. 2008. Potential health benefits of garlic (*Allium Sativum*): A narrative review. **Journal of Complementary and Integrative Medicine**5 (1).
- Bradley, P.R. 1992. **British Herbal Compendium : A Handbook of Scientific Information on Widely Used Plant Drugs**. British

Herbal Medicine Association and produced by its Scientific Committee. Bournemouth, Dorset: The Association.

Brosnan, Thomas M., Marie L. O'Shea. 2000. Trends in Indicators of Eutrophication in Western Long Island Sound and The Hudson-Raritan Estuary. **Estuarine Research Federation**. Vol 23, Number 6, Page 877.

Cahyono., Andarwaulan, N. H., Wijaya, D.T. 1996. Aktivitas antioksidan dari daun sirih (*Pipper betle*Linn.). **Teknologi dan Industri Pangan** 7: 29-30.

Choi Il Sook, Han Sam Cha, and Young Soon Lee. 2014. **Physicochemical and Antioxidant Properties of Black Garlic**. *Molecules*, 19, 16811-16823. Department of Food and Nutrition, Kyung Hee University, Hoeki-dong, Dongdaemun-Ku, Seoul 130-701, Korea.

Colin-Gonzalez, A.L., Santana, R.A., Silva-Islas, C.A., Chanez-Cardenas, M.E., Santamaria, A., Maldonad, P.D. 2006. The antioxidant mechanisms underlying the aged garlic extract and S-allylcystein induced protection. **Oxidative Med. Cell. Longev**: 1–16.

Corzo, M.M., Corzo, N., Villamiel, M. 2007. Biological properties of onions and garlic. **Trends Food Sci. Technol.**, 18: 609-625.

Cowan, M.M. 1999. **Plant products as antimicrobial agents**. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(4), 564-582.

Depkes RI. 2000. **Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat, Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan**. Direktorat Pengawasan Obat Tradisional. Jakarta.

Deresse D. 2014. **Antibacterial Effect of Garlic (*Allium sativum*) on *Staphylococcus aureus*: An in vitro study.** Asian J Med Sci. 2: [62-65]

Dobelis, I. 1990. **Reader's Digest Magic and Medicine of Plants.** New York: The Reader's Digest Association, Inc.

Dusica P, Vesna D, Ljubisa B, Mihajlo Z. 2014. **Allicin And Related Compounds: Biosynthesis And Pharmacological Activity.** Phys Chem Tech. 1: [920].

Dwidjoseputro. 1985. **Dasar-Dasar Mikrobiologi.** Jakarta: Djambatan.

Dwidjoseputro. 1990. **Dasar-Dasar Mikrobiologi.** Jakarta: Djambatan.

Freeman-Cook L, Freeman-cook KD, Alcamo IE. 2006. ***Staphylococcus aureus* Infections: Deadly Diseases And Epidemics.** Infobase Publishing edition. 26-29p.

Freshney, R. Ian. 2005. **Culture of Spesific Cell Types.** Culture of Animal Cells 5th Edition. John Wiley & Sons, Inc. New Jersey, America.

Ganiswarna, S. G. 1995. **Farmakologi dan Terapi.** ed. 4, UI-Fakultas Kedokteran, Jakarta.

Gonzalez-Pastor, J.E., Branda, S.S., Dervyn, E., Ehrlich, S.D., Losick, R., and Kolter, R. 2004. Genes involved in formation of structured multicellular communities by *Bacillus subtilis*. **J Bacteriol** 186: 3970–3979.

Gull I, Saeed M, Shaukat H, Shahbaz M. 2014. **Inhibitory Effect Of *Allium sativum* And *Zingiber officinale* Extracts On**

Clinically Important Drug Resistant Pathogenic Bacteria. J Clin Microbiol Antimicrob. 3(11): [65-73].

Halliwell, B. and Gutteridge, J. M. C. 2000. **Free Radical in Biology and Medicine.** Oxford University Press. New York. USA.

Harbone, J. B. 1987. **Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan.** Institut Teknologi Bandung. Bandung.

Hasiholan, Anju D. P. 2012. **Isolasi, Uji Aktivitas Antioksidan dan Karakteristik Senyawa dari Ekstrak Daun (*Garcinia hombroniana* Pierre).** Universitas Indonesia. Jakarta.

Hsing, AW., Chokkalingam, AP., Gao, YT., Madigan MP., Deng, J., Gridley, G., Fraumeni, J.F Jr. 2002. **Allium Vegetables and Risk of Prostate Cancer: A Population-based Study.** Nov 6;94(21):1648-51.

Hurrell, Richard F. 2004. Phytic Acid Degradation as a Means of Improving Iron Absorption. Institute of Food Science and Nutrition, Swiss Federal Institute of Technology Zurich, Switzerland. **International Journal Vitamin Nutrition Research.**, 74 (6), 2004, 445-452.

Ichikawa, M., Ryu, K., Yoshida, J., Ide, N., Yoshida, S., Sasaoka, T., Sumi, S.I. 2002. **Antioxidant Effects of Tetrahydro- β -carboline Derivatives Identified in Aged Garlic Extract.** BioFactors, 16, 57–72.

Ichikawa, M., Yoshida, J., Ide, N., Sasaoka, T., Yamaguchi, H., Ono, K. 2006. Tetrahydro- β -carboline Derivatives in Aged Garlic Extract Show Antioxidant Properties. **J. Nutr.** 136, 726S–731S.

Jawetz, E., J. L. Melnick, E. A. Adelberg, G. F. Brooks, J. S. Butel, L. N. Ornston. 1995. **Mikrobiologi Kedokteran**, ed. 20, University of California, San Francisco.

Jawetz, Melnick, Adelberg. 2007. **Mikrobiologi Kedokteran**, 23th ed. Jakarta: ISBN978-979-448-859-1.

Kemper, J. Kathi. 2000. **Garlic**. Longwood Herbal Task Force, pp.3.

Kumar K. P. Sampath., Debjit Bhowmik, Chiranjib, Pankaj Tiwari, Rakesh Kharel. 2010. Allium sativum and its health benefits: An overview. **Journal of Chemical Pharmaceutical Research**, 2010, 2(1): 135-146.

Lai Teng Ling and UD Palanisamy. 2012. **Review: Potential Antioxidants from Tropical Plants, Food Industrial Processes Methode and Equipment**, dr.Benjamin valdez (Ed.), ISBN: 978-953-307-905-9, In tech, 6472

Lawson, LD., Wang, ZJ., Hughes, BG. 1991. Identification and HPLC quantitation of the sulfides and dialk(en)yl thiosulfinates in commercial garlic products. **Planta Med** ; 57:363-70.

Lawson, LD., and Wang, ZYJ. 1996. Changes in the organosulphur compounds released from garlic during aging in water, dilute ethanol or dilute acetic acid. **J. Toxicol.**14:214.

Le Loir, Y., Baron, F., Gautier, M. 2003. *Staphylococcus aureus* and food poisoning. **Genetics and Molecular Research** 2(1):63–76

Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI). 2009. **Katalog Kebun Raya LIPI**. Center for Plant Conservation - Bogor Botanical Garden 374. Bogor

Lestienne I, Icard-Verniere C, Mouquet C, Picq C & Treche S. 2005. Effect of Soaking Whole Cereal and Legume Seeds on Iron, Zinc, and Phytate Contents. **Food Chem.** 89: 421-425.

Londhe V, Gavasane A, Nipate S, Bandawane D, Chaudhari P. 2014. **Role of Garlic (*Allium sativum*) in Various Disease: An Overview.** J Pharm Res Opinion. 4: [129-134].

Majewski M. 2013. *Allium sativum* : Facts and Myths Regarding Human Health. **J Natl Ins Public Health.** 65(1): [1-8].

Martin, Diana W., Eldra Solomon, Linda Berg. 2007. **Biology.** 8th Edition. Chicago Super High Quality Books & Factory-sealed Music Co. Chicago.

Miething, H. 1988. HPLC-Analysis of the volatile oil of garlic bulbs. **Phytother Res;** 2:149-51.

Montville, TJ., and Matthews KR. 2008. **Food microbiology: An introduction.** 2nd ed, ASM Press, Washington D.C.

Nakano, M.M., Corbell, N., Besson, J., and Zuber, P. 1992. Isolation and characterization of *sfp*: a gene that functions in the production of the lipopeptide biosurfactant, surfactin, in *Bacillus subtilis*. **Mol Gen Genet** 232: 313–321.

Nohong. 2009. Skrinning Fitokimia Tumbuhan *Ophiopogon jaburan* Lodd dari Kabupaten Kolaka Provinsi Sulawesi Tenggara. **Jurnal Pembelajaran Sains** Vol 5. No 2.

Odey, M.O., Iwara, I.A., Udiba, U.U., Johnson, J.T., Inekwe, U.V., Asenye, M.E., Victor, O. 2012. Preparation of Plant Extracts from Indigenous Medicinal Plants. **International Journal of Science and Technology** Volume 1 No. 12. UK

Park Soo Hyun, Hoyoung Lee, Hak Sung Kim, Yong-Ro Kim, and Sang Ha Noh. 2014. **Optimum Conditions for *S-allyl-(L)-cysteine* Accumulation in Aged Garlic by RSM**. Food Sci. Biotechnol. 23(3): 717-722. Department of Biosystems & Biomaterials Science and Engineering, Seoul National University, Seoul 151-921, Korea.

Pelczar, M. J. 2008. **Dasar-dasar Mikrobiologi**. Edisi I. Ratna Siti Hadioetoemo, penerjemah. Jakarta : Universitas Indonesia Press. Hlm. 99-119.

Perreten V, Boerlin P. 2003. **A New Sulfonamide Resistance Gene (Sul3) In *Escherichia coli* Is Widespread In The Pig Population Of Switzerland**. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 47: 1169-1172.

Pratimi, A. 1995. Perbedaan potensi bakteriostatik antara Bawang Putih Umbi tunggal dengan Bawang Putih umbi banyak terhadap bakteri gram positif dan gram negatif. **Skripsi**. Fakultas MIPA Universitas Diponegoro: Semarang.

Prescott, Harley. 2009. **Prescott's Principles of Microbiology**. Mc Graw Hill Companies, Inc. New York, United States.

Ratnasari. 2009. **Uji aktivitas antibakteri ekstrak diklorometan dan etil asetat daun MIMBA (*Azadiracnta indica* A. Juss). Terhadap bakteri *Staphlococcus aureus* dan *Escherichia coli***. Universitas islam negeri syarifhidayatullah: jakarta.

Rukmana, R. 1995. **Budidaya Bawang Putih**. Edisi ke-1. Yogyakarta: Penerbit Kanisius.

Ryan K.J. 2004. **Staphylococci**. In: Ryan KJ, Ray CG, editors. **Sherris Medical Microbiology: an introduction to Infectious Diseases**. 4 th ed. New York: McGraw-Hill. 261-271p.

Safithri, M., M. Bintang and M. Poeloengan. 2011. **Antibacterial Activity of Garlic Extract Against some Pathogenic Animal Bacteria**. Media Peternakan. Pp. 155-158.

Salima, Jeanna. 2015. **Antibacterial Activity of Garlic (*Allium sativum* L.)**. Faculty of Medicine, University of Lampung.

Santoso, W. 1996. **Usaha Tani : Tanaman Pare**. Jakarta : Isntalasi Penelitian dan Pengkajian Teknologi Pertanian.

Santoso, H.B. 2000. **Bawang Putih**. Edisi ke-12. Yogyakarta: Penerbit Kanisius.

Sastrawijaya, A. Tresna. 1991. **Pencemaran Lingkungan**. Jakarta. Rineka Cipta.

Smith-Keary, P. F. 1988. **Genetic Elements in Escherichia coli, Macmillan Molecular biology series**, London, p. 1-9, 49-54

Soleha, Tri Umiana. 2015. **Uji Kepekaan terhadap Antibiotik**. Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Negeri Lampung.

Stewart, CM. 2003. **Staphylococcus aureus and staphylococcal enterotoxins. Ch 12 In: Hocking AD (ed) Foodborne microorganisms of public health significance**. 6th ed, Australian Institute of Food Science and Technology (NSW Branch), Sydney, p. 359–380.

Stewart, T.J., Chi, M.S., Koh, E.T., 1982. Effects of garlic on lipid metabolism in rats fed cholesterol or lard. **J. Nutr.** 112, 241-248.

Sutton, D. A., Sanche, S.E., Revankar, S.G., Fothergill, A.W., Rinaldi, M.G. 1999. In vitro amphotericin B resistance in clinical isolates of *Aspergillus terreus*, with a head-to-head comparison to voriconazole, **J Clin Microbiol**, 37:2343–2345.

Uzodike E, Igwe I. 2014. **Efficacy Of Garlic (*Allium sativum*) On *Staphylococcus aureus* Conjunctivitis**. JNOA. 12: [20-22].

Waluyo, L. 2010. **Teknik dan Metode Dasar Dalam Mikrobiologi**. UMM Press, Malang.

Wang, L. and Weller, C. L. 2006. Recent advances in extraction of nutra-ceuticals from plants, **Trends in Food Science & Technology** 17: 300–312.

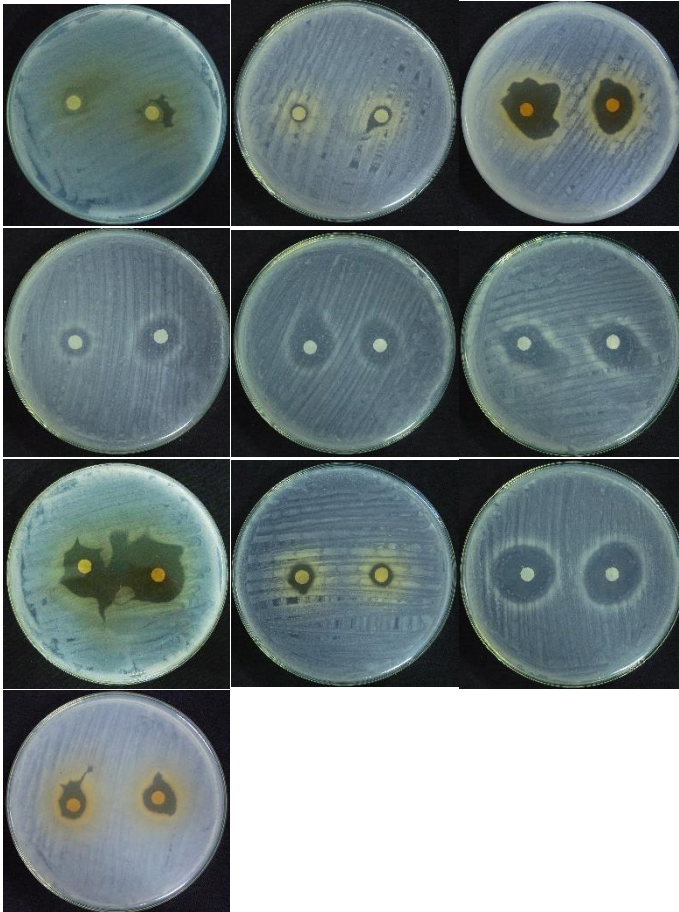
Wendakoon, C., Calderon, P., & Gagnon, D. 2012. Evaluation of selected medicinal plants extracted in different ethanol concentrations for antibacterial activity against human pathogens. **Journal of Medicinally Active Plants**, 1(2): 6068.

Yarnell, E. 1999. Garlic: **Continuing education module**. Natural Healing Track. Januari: 2–6.

“Halaman ini Sengaja Dikosongkan”.

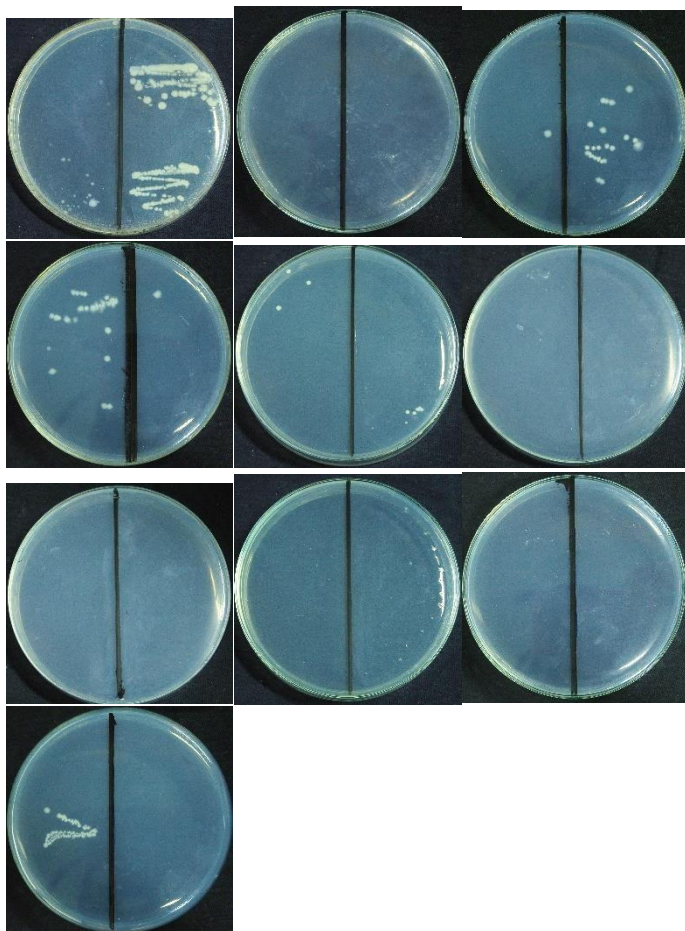
Lampiran 1

HASIL PENGAMATAN KONSENTRASI HAMBAT MINIMUM



Lampiran 2

HASIL PENGAMATAN KONSENTRASI BUNUH MINIMUM



Lampiran 3

DATA UKURAN ZONA HAMBAT EKSTRAK

<i>Escherichia coli</i>						
Konsentrasi ekstrak	Bawang Putih			Bawang Hitam		
	I	II	Rata-rata	I	II	Rata-rata
0%	0	0	0,00	0	0	0,00
25%	0	0	0,00	0	0	0,00
50%	6	6	6,00	7	6	6,50
75%	9	7	8,00	6	6	6,00
100%	13	9	11,00	7	7	7,00

<i>Staphylococcus aureus</i>						
Konsentrasi ekstrak	Bawang Putih			Bawang Hitam		
	I	II	Rata-rata	I	II	Rata-rata
0%	0	0	0,00	0	0	0,00
25%	0	0	0,00	0	0	0,00
50%	0	0	0,00	6,5	0	3,25
75%	8,5	0	4,25	9	0	4,50
100%	8	8,5	8,25	15	20	17,50

<i>Pseudomonas aeruginosa</i>						
Konsentrasi ekstrak	Bawang Putih			Bawang Hitam		
	I	II	Rata-rata	I	II	Rata-rata
0	0	0	0,00	0	0	0,00
25	16,5	10,5	13,50	8	7,5	7,75
50	15,5	20	17,75	12	10	11,00
75	18,5	19	18,75	14,5	14,5	14,50
100	25,5	26,5	26,00	24	17,5	20,75

<i>Bacillus subtilis</i>						
Konsentrasi ekstrak	Bawang Putih			Bawang Hitam		
	I	II	Rata-rata	I	II	Rata-rata
0%	0	0	0,00	0	0	0,00
25%	7	8,5	7,75	0	0	0,00
50%	6,5	6	6,25	10,5	12,5	11,50
75%	6	7	6,50	6	10	8,00
100%	14,5	11,5	13,00	27,5	27,5	27,50

Lampiran 3

Lampiran : Biodata Penulis

BIODATA PENULIS

Penulis yang memiliki nama lengkap St Qurratul Aini ini dilahirkan di Pamekasan pada tanggal 23 Maret 1992. Penulis merupakan anak ke-3 dari tiga bersaudara. Pendidikan formal yang telah ditempuh penulis yaitu pada SDN Kangenan I Pamekasan tahun 1998-2004, SMPN I Pamekasan tahun 2004-2007, SMAN I Pamekasan tahun 2007-2010, hingga pada tahun 2010 penulis diterima di Jurusan Biologi ITS melalui SNMPTN dan terdaftar sebagai mahasiswa dengan NRP 1510 100 029. Penulis sempat aktif didalam organisasi mahasiswa HIMABITS periode kepengurusan 2009/2010, Dewan Kerja Daerah Pramuka Jawa Timur 2010-2015, dan anggota penyelam pramuka Jawa Timur hingga sekarang. Kalimat nasehat yang selalu coba penulis pegang adalah “Waktu tak pernah berjalan mundur, maka gunakanlah ia sebijaksana mungkin untuk menjadi berharga”. Penulis dapat dihubungi melalui surat elektronik pada stq.aini@gmail.com.